



0 602 416 A1

12

EUROPEAN PATENT APPLICATION

②¹ Application number: **93118851.0**

⑤¹ Int. Cl.⁵: **G01N 15/14**

②② Date of filing: **24.11.93**

③ Priority: **14.12.92 US 989622**
19.02.93 US 19716

④ Date of publication of application:
22.06.94 Bulletin 94/25

⑧ Designated Contracting States:
BE CH DE ES FR GB IT LI NL

71 Applicant: **Becton Dickinson and Company**
One Becton Drive
Franklin Lakes New Jersey 07417-1880(US)

(72) Inventor: **North, Howard, Jr.**
100 via Santa Maria
Los Gatos, CA 95032(US)
 Inventor: **Uffenheimer, Kenneth**
24185 Summit Woods Drive
Los Gatos, CA 95030(US)

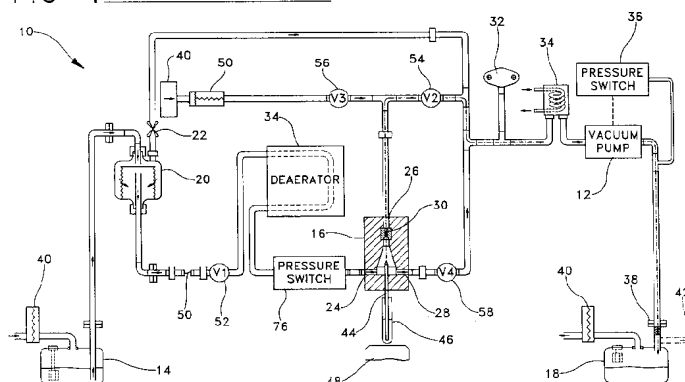
74 Representative: **Selting, Günther et al**
Patentanwälte
von Kreisler-Selting-Werner,
Bahnhofsvorplatz 1 (Deichmannhaus)
D-50667 Köln (DE)

54 Method for control of flow cytometer having vacuum driven flow.

57) The present invention relates to a system for controlling the movement or transport of objects such as cells and other particles in a moving liquid stream. More particularly the invention relates to a system including a vacuum pump which pulls the sheath fluid from an open supply reservoir through a flow cell assembly where cell analysis occurs and discharges the flow cell effluent to an open waste reservoir. A pressure drop is created through the conduit leading from the supply reservoir to the flow cell which aspirates the cell suspension from an open sample vessel into and through the flow cell. The vacuum is regulated by controlling the electric

power applied to the vacuum pump motor. Starting, stopping, reverse flushing, and draining of the flow cell assembly are controlled by programming the operation of four electric solenoid valves in fluid communication with the flow cell inlet and outlet passages, the operation of a reverse flush pump and, the operation of an electrically controlled tube lifter. A deaerator is provided to remove some of the air dissolved in the sheath fluid provided to the flow cell assembly to prevent the release of air and formation of adherent air bubbles in sensitive areas of the flow cell assembly.

FIG-1 FLOW CYTOMETER CONTROL SYSTEM



EP 0 602 416 A1

This is a continuation-in-part of my prior application Serial No. 07/989,622, filed December 14, 1992.

Field of the Invention

The present invention relates to a system for controlling a flow cytometry process in which cells and other particles suspended in a moving liquid stream, or sheath fluid, are measured and/or separated. More particularly the invention relates to a flow cytometer control system driven by a vacuum pump in which the starting, stopping and draining of the flow cell is controlled by programming the operation of four solenoid-actuated valves connected to the inlet and outlet conduits of the flow cell and the operation of an electrically controlled cell sample tube lifter and operation of pressure pump which back flushes the sample introduction conduit. A flow restrictor creates a pressure drop in the sheath fluid flow between the supply reservoir and the flow cell developing a vacuum which aspirates cell sample from an open cuvette or tube into and through the flow cell.

Background Art

Flow cytometry, the measurement of cells in a moving liquid stream, is a valuable analysis tool in research laboratories. Conventional flow cytometry devices for sorting objects such as cells and particles basically consist of a liquid stream forming a sheath fluid into which cell sample is introduced then focused through an orifice. As the objects pass through the orifice, particular characteristics of the objects are determined based upon the analyzing or counting capabilities of the device. Usually, the device can sort or count at high speeds, collecting tens of thousands of the objects based on a variety of chemical and physical characteristics such as size, granulation of the cytoplasm and presentation of specific antigens. Accordingly, there has been considerable interest in flow cytometry to sort objects for subsequent analysis.

One commercially available flow cytometer which relies on a hydrodynamically focused fluid system is known as the FACScan™ instrument sold by Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, California. The FACScan™ instrument rapidly analyzes cells on the basis of fluorescence and light scatter properties. Analysis is accomplished by introducing cells in a suspension to the center of a focused liquid stream thus causing them to pass, one at a time, through a focused light from a high powered laser. Each cell is individually characterized by its light scatter signals and by the intensity and color of fluorescence emitted while it is illuminated. This system is de-

scribed in U.S. Patent 4,844,610 issued Jul. 4, 1989 to North, U.S. Patent 5,030, 022 issued Jul. 9, 1991 to North and U.S. Patent No. 5,040,890 issued Aug. 20, 1991 to North.

Typically flow cytometers systems have been implemented as pressure driven fluidics systems driven by pressure pumps. However, pressure driven systems have proven disadvantageous in that system leaks produce sprays of sheath fluid which may expose the operator to bio-hazardous substances and cause damage to optical and electronic components of the instrument. Regulatory valves required to control pressure driven cytometry systems tend to become clogged with blood cells causing the valves to stick or otherwise malfunction. In addition, the design of pressure driven fluidics systems is more complicated than is the design of vacuum driven fluidics systems since pressure driven systems require the use of pressurized connections for the supply reservoir and for other features necessary for the system to withstand high system pressure levels. Pressure driven systems also require the sample vessel to sealably engage the flow cell assembly. Removal of the sample vessel can produce hazardous aerosols and back flow dripping of bio-hazardous fluids.

Thus, a vacuum driven flow cytometry system provides many advantages over a pressure driven system. The design of the supply reservoir is greatly simplified, not requiring the use of pressurizing connections, and can be refilled by gravity drain from a elevated supply vessel. In addition, there is no back-flow drip from the cell sample uptake tube, used to introduce the cell sample into the sheath fluid flow, which may expose the operator to bio-hazardous substances. Cell sample vessels do not have to be pressurized or sealably engage the instrument to contain the system fluid allowing a new freedom of design in terms of the size and shape of the cell sample vessel. This freedom of design facilitates the design of auxiliary equipment, such as automatic tube lifters, which improve cell sample presentation. Another advantage realized is that the descent of the tube lifter can be prolonged allowing fluid residue from the sample uptake tube to drain into the cell sample vessel thus minimizing cell sample carryover which could skew test results of subsequent test runs. Finally, use of vacuum driven fluidics provides the opportunity to design a system in which the pump is utilized on a "demand" basis, being turned off once the system has reached a predetermined system vacuum or pressure level thus increasing the service life of the pump.

A major problem encountered in the development of a vacuum driven flow cytometer is the creation of air bubbles in the sheath fluid as the system pressure level is reduced to a level below

atmospheric pressure. Air dissolved in the sheath fluid at atmospheric pressure comes out of solution when the sheath fluid is subjected to a vacuum. The bubbles lodge in troublesome areas such as in the analysis region of the flow cell. The bubbles may deflect cells from their proper trajectory through the illuminated area or analysis region of the flow cell. The present invention solves this problem through the use of a deaerator connected to the intake passage of the flow cell which removes much of the air dissolved in the sheath fluid.

Another problem presented in the development of a vacuum driven flow cytometer is air being drawn into the flow cell by the residual vacuum remaining in the flow cell at the end of the test cycle. Thus, a means is required to equalize the vacuum developed in the flow cell thereby preventing air from being drawn into the flow cell. This problem is solved by providing a valve, connected to an outlet passage of the flow cell, which vents the flow cell to atmospheric pressure as the tube lifter is descending thereby preventing air from being drawn into the flow cell. Computer control of valve actuation and the rate of descent of the tube lifter allows synchronous programmed control of the timing of these components. A rate of tube lifter descent which is sufficiently slow to permit the flow cell to fully vent before the uptake tube is removed from the analysis region is specified in programmed control.

SUMMARY OF THE INVENTION

It is therefore an object of the present invention to provide a system architecture and related method for control of a flow cytometer process having vacuum fluidics. The present invention provides many advantages over existing cytometers which use pressure driven fluidics and valves to regulate sheath and sample flow and which typically have manual sample presentation.

Thus according to one aspect of the present invention, a flow cytometer control system is described which includes a flow cell with intake and outlet passages, a vacuum pump for drawing the sheath fluid through the flow cell and a flow restrictor, connected to the intake passage, for developing a pressure drop proximate to the cell sample vessel which aspirates cell sample from the vessel into the flow cell.

According to another aspect of the present invention, a flow cytometer control system is described which includes a first valve V1 connected to the intake passage and second valve V2 connected to an outlet passage wherein opening valve V2 a predetermined time T_1 before opening valve V1 allows cell sample to be pulled through the flow cell for a brief period with full system vacuum

before the sheath fluid flow is begun thereby "boosting" the cell sample concentration through the orifice or cell analysis portion of the flow cell to the normal sample flow rate more rapidly.

According to another aspect of the present invention, a control system is described which includes a vacuum sensor connected to an outlet of the flow cell for sensing the pressure or vacuum level of the sheath fluid and a driver for regulating power delivered to the vacuum pump motor. A solid state circuit, coupled to the vacuum sensor and the motor driver, is provided for controlling the operation of the motor driver based on the system vacuum level at the outlet of the flow cell. Power delivered to the vacuum pump motor is modulated to adjust the vacuum level to a predetermined fixed value.

According to another aspect of the present invention, a control system is described for a vacuum driven system which includes a deaerator for removing gas dissolved in the sheath fluid which is released by the lower pressure level of the vacuum drive.

According to another aspect of the present invention, a processor controlled automatic tube lifter is described which permits a slow rate of tube descent allowing the external residue on the sample uptake tube to drain into the cell sample vessel thereby reducing carryover of cell sample between test cycles.

According to another aspect of the present invention, a control system is described which includes a third valve V3 for venting the flow cell to atmospheric pressure as the tube lifter descends thereby equalizing the vacuum developed in the flow cell to prevent air from being drawn into the flow cell through the sample injection tube.

According to another aspect of the present invention, a method for controlling a cytometer system is described which includes the steps of providing a flow cell which is connected to a sheath fluid system and driven by a vacuum pump, aspirating the cell sample into the flow cell for a predetermined time T_1 to boost the cell sample flow rate through the flow cell, then circulating sheath fluid through the flow cell for cell analysis. The additional step of reverse-flushing the flow cell to minimize carryover of residual cell sample and contaminants which could skew test results is also described. Control of the speed of tube lifter descent is provided for operator convenience, enhancing his ability to control the system in optimum fashion.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

FIG. 1 is a schematic representation of the fluidics design of the present invention, the flow

cytometer control system.

FIG. 2 is a block diagram of the computer control for the present invention.

FIGS. 3A AND 3B are a logic flow diagram depicting method steps for the computer control of valves V1-V4, the reverse-flush pump, and the tube lifter.

FIG 4 is a timing diagram depicting the operation of valves V1-V4.

FIG. 5 is a circuit diagram depicting the closed loop control for the vacuum pump and discharge pressure switch.

DETAILED DESCRIPTION OF THE PREFERRED EMBODIMENTS

Referring now to the drawings wherein like reference numerals are used to reference identical components in various views, **FIG. 1** is a schematic representation of the fluidics of the present invention, flow cytometer control system, generally denoted by the numeral **10**. System pressure or vacuum is developed by a vacuum pump **12**, which draws sheath fluid from a supply reservoir **14** through a flow cell assembly **16** where cell sample is introduced and cell analysis occurs. Waste effluent is then discharged into a waste reservoir **18**. The sheath fluid from supply reservoir **14** is purified before entering flow cell assembly **16** by drawing it through a 0.45 micron saline filter **20**. A manual tubing pinch valve **22**, provided in an outlet passage of the saline filter **20**, is opened to bleed off air trapped in the saline filter **20**. A KNF Neuberger Pump Model NF30KVDC is selected for use as vacuum pump **12** because it is self priming and because an identical pump can be used as pressure pump **76** which drives the deaerator **34** thus minimizing the number of components needed in stock to manufacture the invention.

Flow cell assembly **16** includes an intake passage **24** and first and second outlet passages **26** and **28**, respectively. Within the flow cell assembly **16**, sheath fluid is focused through a cell analysis region **30**. A test sample containing objects, usually tens of thousands of blood cells, is analyzed by counting or sorting the cells at high speeds based on a variety of chemical and physical characteristics such as size, granulation of the cytoplasm and the presence of specific antigens.

The vacuum level of the flow cytometer control system **10** is regulated to a fixed value by modulating the power delivered to the motor of the vacuum pump **12** based upon the system vacuum level sensed by a vacuum sensor **32** which is connected to the first and second outlet passages, **26** and **28**, of the flow cell assembly **16**. Pulsations in vacuum level are attenuated by a pulsation damper **34** which can be a jar with an internal volume many

times (10 to 1000 times) the stroke volume of the vacuum pump which is preferably a piston type with inlet and outlet check valves. Normally closed vacuum pump discharge pressure switch **36**, for example Air Logic Switch Model F4100-100-50W, is connected in series with the motor of vacuum pump **12** to prevent excessive pump discharge pressure which could cause leaks or damage to vacuum pump **12**. Pressure switch **36** shuts off the vacuum pump **12** when the waste reservoir **18** is removed. The quick disconnect device **38** seals off the flow cytometer control system **10** when the waste reservoir **18** is removed. Vent filters **40**, for example 0.2 micron TEFLON filters, are provided on the supply reservoir **14** and on the waste reservoir **18** to contain aerosols and prevent fluid spillage when the reservoirs **14** and **18** are handled outside of the instrument. A remote discharge connection **42** may replace the waste reservoir **18**, eliminating the need for the operator to handle hazardous waste fluid containers.

Providing a flow cytometer system which is driven by a vacuum pump proves advantageous in that the sheath fluid supply reservoir **14** is not pressurized allowing a simple, inexpensive design without pressurized connections or other features which are required to provide a positive system pressure. The supply reservoir **14** can also be refilled by gravity drain from a superior supply vessel and waste sheath fluid may be discharged to a remotely located disposal site without affecting the operation of the system. The remote discharge feature eliminates the need for the operator to empty the waste reservoir **18** which may expose the operator to bio-hazardous material. In addition, system leaks do not produce sprays of sheath fluid which can damage optical, electronic, or other components of the test instrument.

The cell sample is drawn into the flow cell assembly **16** through a sample uptake tube **44**. The cell sample vessel **46** is placed in a tube lifter **48** which is raised toward the flow cell assembly **16** until the sample uptake tube **44** is immersed in the sample contained within cell sample vessel **46**. A flow resistor **50**, which may comprise a piece of conduit of a fixed length with a reduced inside diameter or a needle valve, creates a pressure drop in the conduit leading to flow cell assembly **16** thereby developing a vacuum proximate to the flow cell assembly **16** which aspirates the sample from the cell sample vessel **46**, usually an test tube or cuvette, into the flow cell assembly **16** at the proper rate. The use of vacuum driven fluidics proves advantageous in that dripping of the sheath fluid from the sample uptake tube **44** (which could produce bio-hazardous conditions) is avoided. Therefore, auxiliary devices to contain the drip from the sample uptake tube **44** after a test run are not

required. In addition, cell sample vessels do not have to be pressurized or to sealably engage the flow cell assembly 16 thereby allowing freedom of design in terms of the size and shape of the cell sample vessel 46 and freedom of choice in terms of designing a means for cell sample presentation.

The deaerator 34 is length of thin walled silicone rubber tubing. The sheath fluid flows inside the tubing while the outside of the tubing is exposed to the full system vacuum level. Because silicone rubber is permeable to the passage of air, with its major components of oxygen and nitrogen, these gases diffuse through the silicone rubber tubing and are drawn off by the system vacuum. To construct the deaerator 34, a length of silicone rubber tubing is coiled up inside a 4 oz plastic jar. The system vacuum is applied to the jar interior which then also serves as the pulsation damper 34. The tubing is medical grade Dow Corning tubing with 0.132 inch inside diameter, 0.183 outside diameter and a length of 50 inches. Tested at a system vacuum of 0.3 of an atmosphere, this tubing has twice the needed capacity to deaerate the sheath fluid so that no bubbles are formed in the flow cell inlet regions.

The tube lifter 48 is a linear motion device which travels from a bottom position, where the cell sample vessel 46 is installed or removed conveniently by the operator, to an upward position over a distance of about five inches. In the upward position, the tube lifter 48 presents the cell sample vessel 46 to the sample uptake tube 44 through which the cell sample is aspirated from the cell sample vessel 46 into the flow cell assembly 16. The tube lifter 48 is guided on a rod during its linear travel and is driven upward and downward by a small DC motor operating through a gear train with a rack and pinion to produce the linear motion. Its extremes of travel are sensed by opto-interruptive devices which sense the interruption of an optical beam by a sheet metal flag on the carriage of the tube lifter 48 when the tube lifter 48 has traveled to the top or bottom position. These sensing devices are positioned at both the top and bottom positions which causes the power to the motor of tube lifter 48 to be shut off. The carriage of tube lifter 48 remains in the down position by gravity when no voltage is applied to the motor of tube lifter 48. The carriage of tube lifter 48 is held in the upward position by a retaining magnet.

Four normally-closed solenoid-actuated valves V1-V4, 52, 54, 56, 58 respectively, are connected to the flow cell assembly 16 to provide control of fluid flow. V1 is connected to the intake passage 24 of flow cell assembly 16. V2 54 is connected to the first outlet passage 26 of the flow cell assembly 16 and to the vacuum pump 12 providing communication between the flow cell assembly 16 and the

waste reservoir 18. V3 56, also connected to the first outlet passage 26, vents to atmospheric pressure. V4 58, is connected to the second outlet passage 28 of flow cell assembly 16 providing a communication path through the flow cell assembly 16 to waste reservoir 18.

FIG. 2 is a schematic representation of the computer control system for the flow cytometer control system. The computer control system 60 includes microprocessor unit 62 comprises a single circuit board mounted inside the instrument cabinet of the flow cytometer control system 10. Operator access switches 64-68 actuate RUN, STOP (STANDBY) and DRAIN test modes, respectively. The micro-processor unit 62, for example Intel 286, may also be used for automatic control. During STOP (STANDBY) mode, all the valves V1-V4 52, 54, 56, 58 are closed. During normal test RUN mode, V1 52 and V2 54 are open permitting sheath fluid to flow through the flow cell assembly 16. The sheath fluid is then discharged as effluent into waste reservoir 18. Valves V3 56 and V4 58 are opened by actuating the DRAIN operator access switch 68 to provide an alternative communication path through the cell analysis region 30 of the flow cell assembly 16 to waste reservoir 18. During DRAIN mode, the flow cell assembly 16 is drained to clear clogs and remove gas bubbles trapped in the flow cell assembly 16. Opening valves V3 56 and V4 58 allows air to enter the flow cell and fluid to exit through valve V4 58. An air flow restrictor 50 with a protective filter is provided between valve V3 56 and the atmospheric inlet to limit airflow during the DRAIN mode to a value less than the vacuum pump capacity so that the system vacuum or pressure level can be maintained.

Actuation of an operator access switches 64-68, designating RUN, STOP (STANDBY), and DRAIN modes respectively, by the operator causes the micro-processor unit 62 to output control signals which energize the appropriate combination of valves V1-V4 52-58 and which appropriately position the tube lifter 48 and which energize the reverse flush pump 76 to implement a desired test mode. Computer control allows valve actuation timing, tube lifter ascent and descent timing and reverse flush pump timing to be specified in computer programs which are downloaded into the micro-processor unit 62 from the storage medium 72. The storage medium 72 may be provided, for example, by a floppy disk inserted into a floppy disk drive 74 which is also contained in the computer control system 60. Programmed control of the solenoid-actuated valves V1-V4 52-58, the tube lifter 48 and the reverse flush pump 76 allows the designer to finely tune the component actuation timing to optimize the fluidics performance of the overall system thereby minimizing cell sample car-

ryover, optimizing auto-boost of the cell sample flow rate and achieving stabilization of system vacuum level and fluid flow.

FIGS. 3A and 3B are a flow diagram depicting the method steps for computer program control of the present invention, the flow cytometer control system including valves V1-V4 **52-58**, the reverse or back-flush pressure pump **76**, and the tube lifter **48**. **FIG 4** is a timing diagram depicting the energized states of these components during normal test RUN cycle. As shown in **FIG. 3A**, the method of the present invention begins in step **100** by placing a new sample contained in a cell sample vessel **46** into the tube lifter **48** and the RUN switch **64** is actuated by the operator. In step **102**, the tube lifter up (TLU) line **47** is energized causing the tube lifter **48** to be driven upward for 59 computer ticks (each computer tick is equal to 18 seconds) or approximately 3 seconds. This completes the upward ascent of the tube lifter. The tube lifter is maintained in the up position by a retaining magnet. In step **104**, while the tube lifter **48** is maintained in the up position, valve V2 **54** is energized or opened for 18 computer ticks or one second to perform the auto-boost function wherein the cell sample is aspirated from the cell sample vessel **46** at 5 to 7 times the normal rate to boost the cell sample flow rate through the analysis region **30** to the normal test level more rapidly. In step **106**, valve V1 **52** is energized for 126 computer ticks or 7 seconds, while the tube lifter is maintained in its upward position and V2 **54** remains open. After this, data acquisition begins in step **108** for whatever period is necessary for the particular test being run while V1 **52** and V2 **54** remain energized and the tube lifter **48** is maintained in its up position. The data acquisition period of step **108** includes a period for the system to reach full stabilization of the sheath and sample flows, for example seven seconds.

Data acquisition is terminated, either by computer control or by the operator pressing the STOP operator access switch **66** in step **110** of **FIG. 3B**. In step **112**, valves V1 **52** and V2 **54** are each maintained in the energized or open position, the tube lifter **48** is maintained in its upward position while the reverse flush pump **76** is energized to perform the reverse flush cycle for 36 computer ticks or 2 seconds. In step **114**, for the next 2 computer ticks or just 0.1 seconds, while valves V1 **52** and V2 **54** are still energized or open, the tube lifter down line **49** is energized to begin the descent of the tube lifter **48**. The tube lifter down (TLD) line causes the tube lifter **48** to be driven downward. In step **116**, the tube lifter down line **49** is deenergized while valves V1 **52** and V2 **54** are still maintained in an energized or open condition for 54 computer ticks or 3 seconds. During this

time, the tube lifter **48** continues a slow descent begun in the previous step **114** in which the tube lifter line **48** was energized for just 0.1 second. The slow descent of the tube lifter **48** allows the cell sample vessel **46** to slowly separate from the cell sample uptake tube **44** and the residual cell sample to drain from the cell sample uptake tube **44** back into the descending cell sample vessel **46**. Finally, in step **118**, valves V1 **52** and V2 **54** are deenergized or closed while valve V3 **56**, the atmospheric inlet valve, is energized or opened and the tube lifter down line **49** is energized for 54 computer ticks or 3 seconds driving the tube lifter **48** downward. The tube lifter **48** stops automatically and valve V3 **56** is deenergized as the cycle terminates. This sequence of events is also depicted in the computer control timing diagram of **FIG. 4**.

The solid state control circuit for the vacuum pump is depicted in **FIG. 5**. Operational amplifier **80** accepts input signals from vacuum sensor **32**, connected to the inlet of pulsation damper **34**. Vacuum sensor **32** monitors the over-all system vacuum or pressure level. The vacuum sensor **32** incorporates a diaphragm of a piezoresistive material which generates a proportional voltage when deflected in response to the system pressure or vacuum level. The output from vacuum sensor **32** is modeled in the form of a Wheatstone Bridge which is energized at terminals 1 and 3 from a 12V power source **78**. The Wheatstone bridge is picked up on balance from terminals 2 and 4 and applied to the terminals of operational amplifier **80**, which has a feedback resistor **82** of 100K Ohms. The output of operational amplifier **82** at pin 1 is a voltage which has a proportional linear relationship to the system pressure or vacuum level (voltage/pressure). The output of the operational amplifier **80** is applied to the positive input terminal of operational amplifier **84**. Potentiometer **86** ranges from a positive 12V setting to a zero voltage setting and acts as the vacuum setting level control which is applied to the negative input terminal of operational amplifier **84**. Operational amplifier **84** acts as a comparator to determine which input voltage is greater.

If the vacuum level is inadequate, the current from operational amplifier **84** drives motor driver **70** (Power MOSFET), to output more current to the motor of vacuum pump **12** to drive it faster and harder in an effort to bring the system vacuum level up to the data level set by the potentiometer **86**. This scheme provides utilization of the full drive voltage (to within a few tenths of a volt) from the motor of vacuum pump **12**. The "no load" to "full load" ratio provide has been found to be within approximately 3% of the vacuum setting. The vacuum level is set to approximately 4.5 psi vacuum below atmospheric pressure at the factory.

The discharge pressure switch **36** is normally closed. If there is no pressure at the discharge of the vacuum pump **12** then discharge pressure switch **36** remains closed and the vacuum pump control circuit functions normally. If excessive pressure builds up at the discharge conduit of the vacuum pump **12**, then discharge pressure switch **36** opens the circuit, disconnecting power from the vacuum pump **12**. Such an excessive pressure condition may occur when then the waste reservoir **18** is removed. In this event, quick disconnect device **38** seals off the conduit so that the system begins to output effluent into a dead-end passage thereby building up pressure. Provision of discharge pressure switch **36** prevents the motor of vacuum pump **12** from burning out or from spraying effluent saline solution into the environment.

Vacuum sensor **32** may be provided by Motorola Vacuum Sensor Model MPX2051. Motor driver **70** is provided, for example, by Power MOSFET Model 1RF513. One advantage of regulating power delivery to the motor of vacuum pump **12** based on a preselected system vacuum level is that the vacuum pump **12** runs only when required as a "demand" component. Thus, the vacuum pump **12** need not run at all during instrument STANDBY mode when no sheath fluid flows and may run only a few percent of the rated speed during normal test RUN mode thereby extending the life of the vacuum pump **12**. The identical pump model is utilized as both the vacuum pump **12** and the pressure pump **76**. This pump may be provided, for example by KNF Neuberger, Model NF30KVDC. The selection of this pump is based on the fact that it is self priming. When the system is first energized, the pump must be able to pull air through the system conduits followed some seconds later by pulling liquid to create the normal vacuum cycle. To perform this function, the vacuum pump must be "self-priming." In addition, when the pump is used as pressure pump **76**, it must be able to flow the sheath fluid when in a non-energized state and must thus have a low pressure drop. The aforementioned model pump has very small pressure drop check valves which allow the fluid to be pulled through the pump without a great pressure drop.

Claims

1. A flow cytometer control system for controlling the delivery of a cell sample drawn through an analysis region from a vessel, comprising:
 - a flow cell, in communication with said cell sample vessel, for performing cell sample analysis;
 - an intake passage, connected to said flow cell, providing an ingress communication path

for sheath fluid into said flow cell;

first outlet passage, connected to said flow cell, providing a first egress communication path for said sheath fluid out of said flow cell;

a vacuum pump with motor means, in vacuum communication with said first and second outlet passage, for pulling said sheath fluid through said flow cell; and

flow restrictor means, connected to said intake passage, for developing a pressure drop proximate to said cell sample vessel causing cell sample to be aspirated from said vessel into said flow cell.

2. The control system of claim 1, further comprising;

a first valve, connected to said intake passage, for controlling the flow of said sheath fluid into said flow cell;

a second valve, connected to said first outlet passage, for controlling the flow of said sheath fluid out of said flow cell;

wherein actuating said second valve permits a vacuum to be developed through said analysis region of said flow cell for a predetermined time before actuating said first valve thereby pulling cell sample through said flow cell at a high predetermined cell sample flow rate to boost sample flow into said analysis region; and

processor means, connected to said first and second valves, for controlling the actuation of said first and second valves under programmed control.

3. The control system of claim 2, further comprising;

a third valve, connected to said first outlet passage and to the atmosphere, for providing a communication path to atmospheric pressure at such time that said tube lifter is descending to substantially eliminate the vacuum developed in said flow cell thereby preventing air from being drawn into said flow cell with no sample being present;

sensor, connected to said first outlet passage, for sensing the vacuum level of said sheath fluid;

driver means, coupled to said vacuum pump motor, for regulation of power delivery to said vacuum pump motor; and

controller means, coupled to said sensor and said driver, for controlling the operation of said driver based on said vacuum level;

whereby power delivery to said vacuum pump motor may be modulated based on said vacuum level to adjust said vacuum level to a predetermined fixed value.

4. The control system of claim 2, wherein said first, second, third and fourth valves are solenoid actuated.
5. The control system of claim 1, further comprising:
 - a deaerator, connected to said intake passage, for removing gas dissolved in said sheath fluid, wherein said deaerator is made of material which is permeable to oxygen and nitrogen to allow these gases to diffuse through its wall when exposed to said vacuum level and wherein said deaerator is contained within a jar which is exposed to said system vacuum thereby serving to dampen the vacuum pulsations of said vacuum level.
6. The control system of claim 1, further comprising:
 - a sample uptake tube, connected to said flow cell, for providing a communication path into said flow cell; and
 - a tube lifter, movably positioned a predetermined distance from said uptake tube, for positioning said sample uptake tube inside said cell sample vessel, the rate of descent of said tube lifter being controlled by said processor means;
 - whereby any external residue in said sample uptake tube is allowed to drain into said cell sample vessel to reduce carryover of cell sample between test cycles.
7. The control system of claim 1, further comprising:
 - a supply reservoir connected to said first intake passage; and
 - a waste reservoir connected to said first and second outlet passages;
 - a pressure pump in fluid communication with said intake passage; and
 - a first valve, connected to said intake passage, for controlling the flow of said sheath fluid into said flow cell;
 - a second valve, in fluid communication with said intake passage and said first outlet passage, for controlling the flow of said sheath fluid into and out of said flow cell;
 - wherein with simultaneous activation of said first and second valves said pressure pump flushes residual cell sample and contaminants from said flow cell, and wherein said tube lifter, said pressure pump and said first and second valves means are connected to said processor means and are actuated under programmed control.
8. A method for controlling a cytometer system having a flow cell for cell analysis with intake and outlet passages connected to a sheath fluid system driven by a vacuum pump, comprising the steps of:
 - (A) aspirating cell sample into said flow cell; and
 - (B) passing sheath fluid through said flow cell for cell analysis.
9. The method of claim 8, further comprising the steps of:
 - (C) reverse-flushing said flow cell to minimize carryover of cell sample and contaminants.
10. The method of claim 9, wherein step (A) is performed by:
 - providing a first valve, connected to said intake passage, and a second valve connected to said first outlet passage; and
 - energizing said second valve a predetermined time before energizing said first valve to develop a vacuum in said flow cell which aspirates said cell sample through said analysis region at a predetermined flow rate;
 - wherein step (B) is performed by:
 - energizing said first valve to permit said sheath fluid to flow through said analysis region; and
 - wherein step (C) is performed by:
 - energizing said first and second valves and said reverse flush pump substantially simultaneously to permit sheath fluid flow through said flow cell thereby to flush cell sample and contaminants from the flow cell.

FIG-1 FLOW CYTOMETER CONTROL SYSTEM

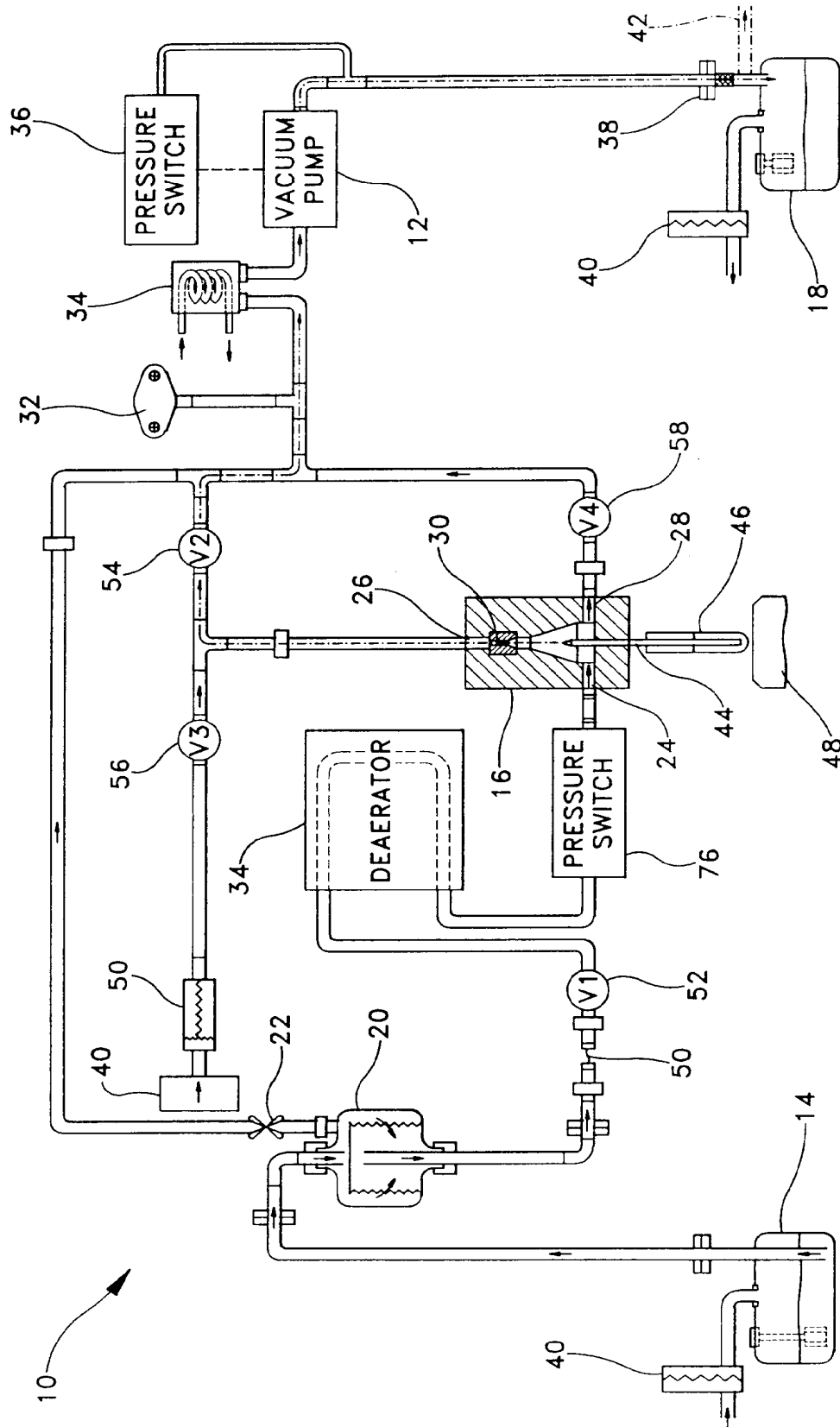


FIG-2

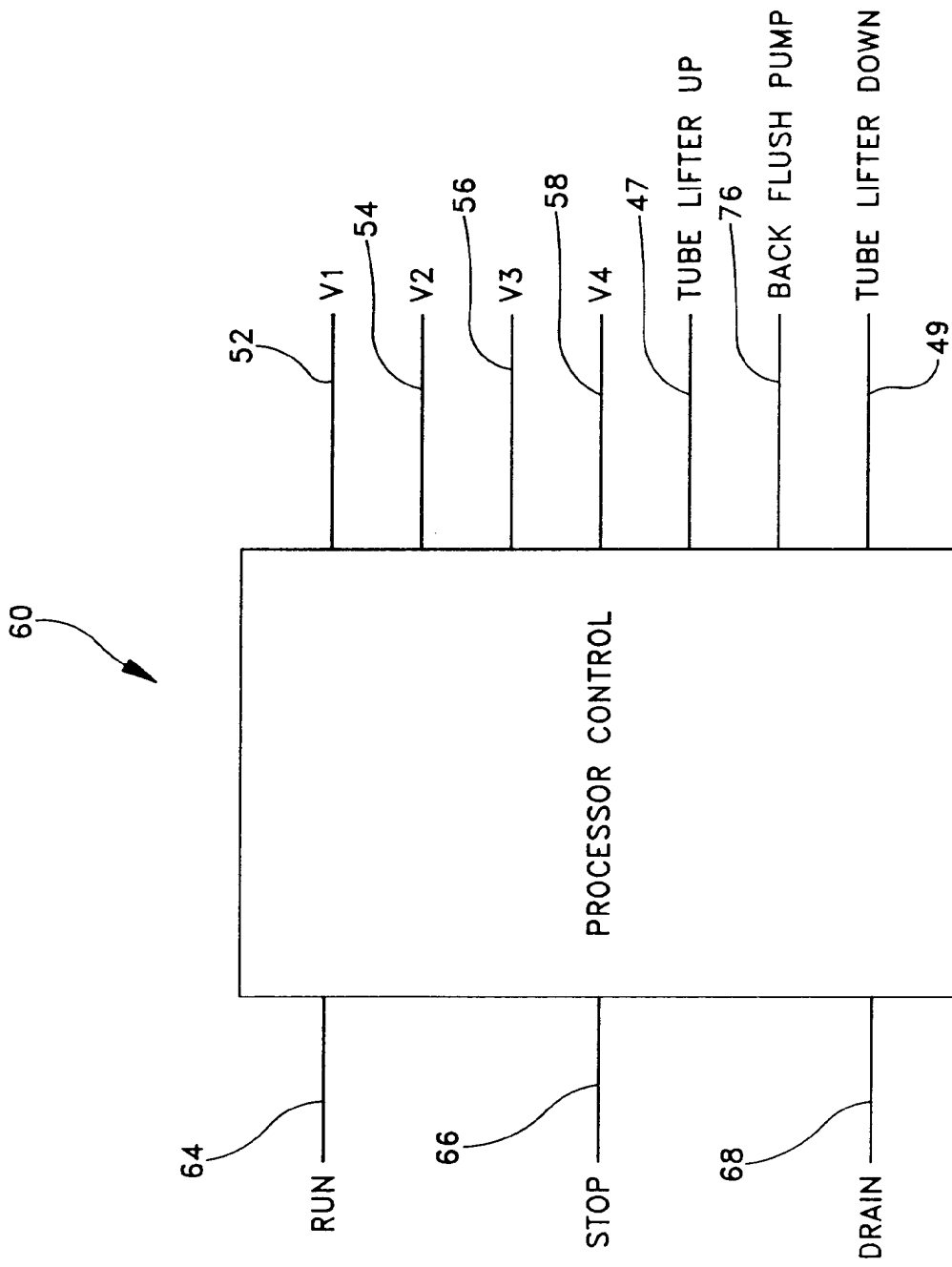


FIG-3A

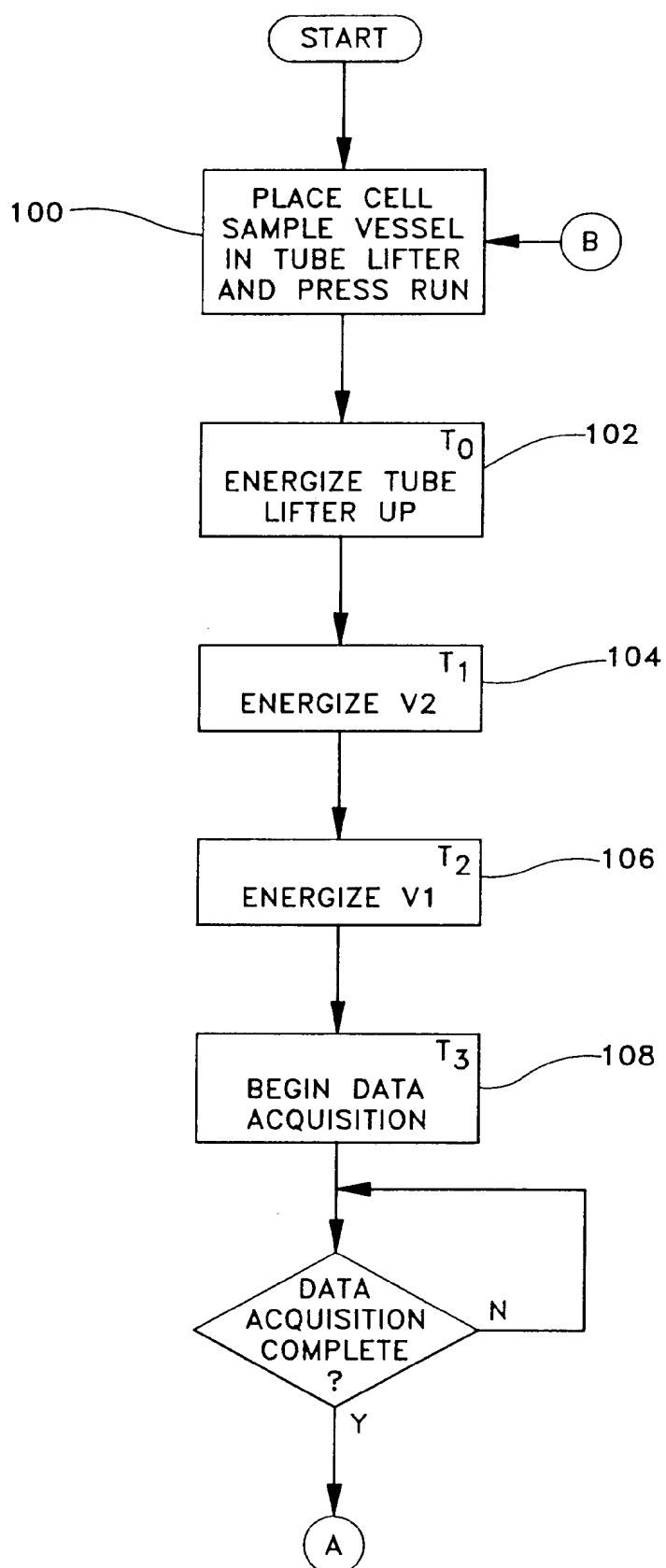


FIG-3B

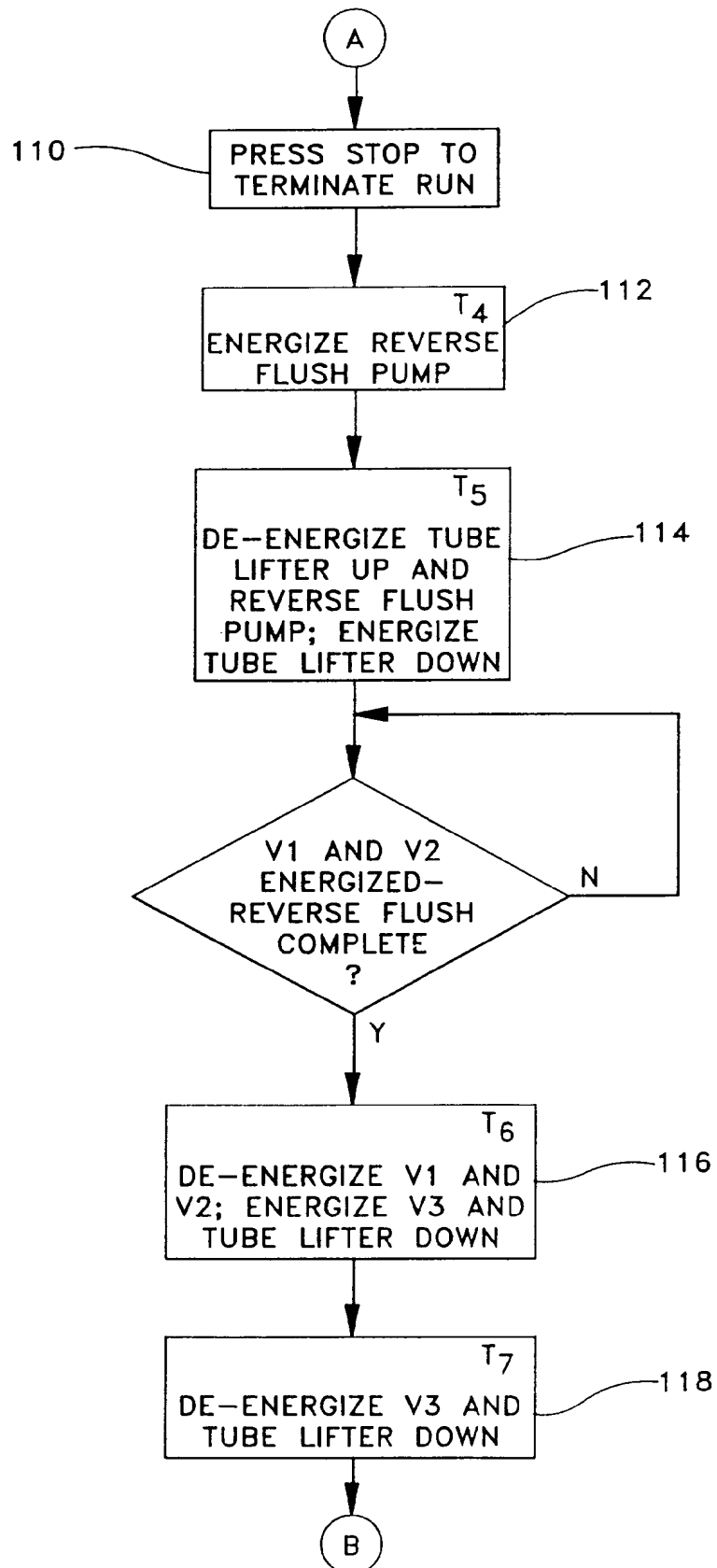


FIG-4

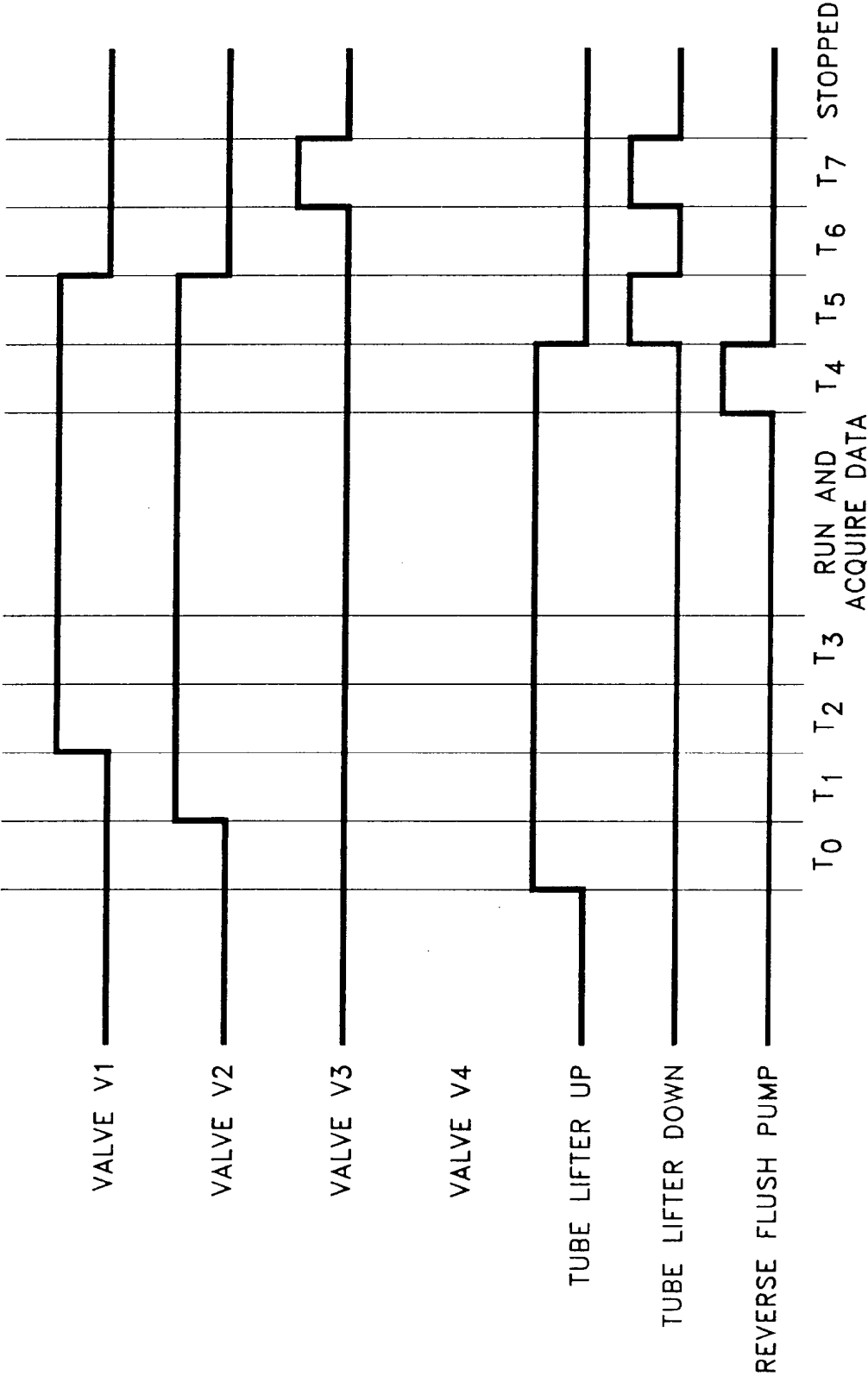
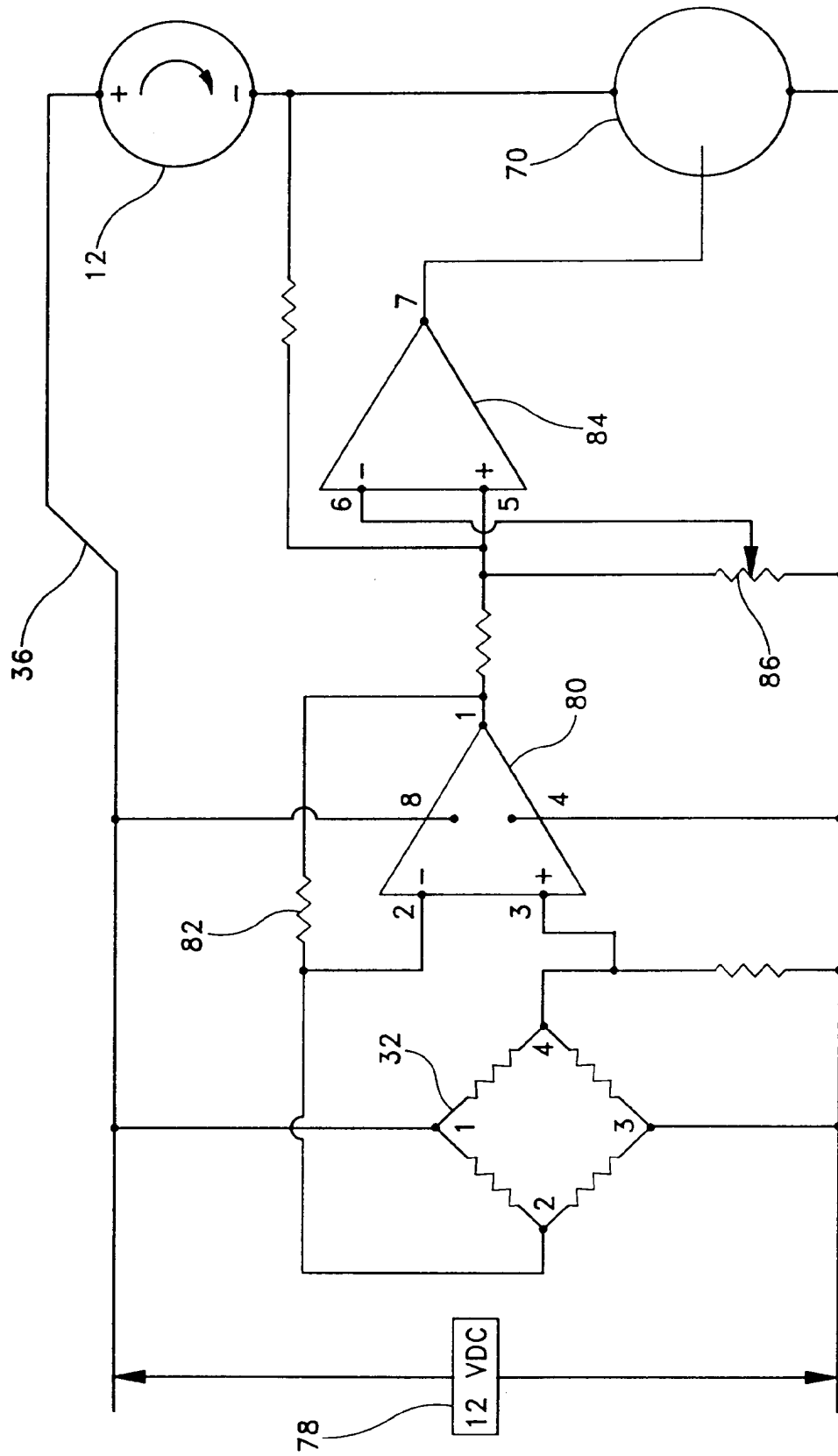


FIG-5





European Patent
Office

EUROPEAN SEARCH REPORT

Application Number
EP 93 11 8851

DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.Cl.5)
A	EP-A-0 478 392 (TOA MEDICAL) * column 3, line 38 - column 4, line 6 * ---	1	G01N15/14
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 16, no. 209 (P-1354) 18 May 1992 & JP-A-04 036 636 (CANON) 6 February 1992 * abstract * -----	1	
			TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int.Cl.5)
			G01N
The present search report has been drawn up for all claims			
Place of search THE HAGUE		Date of completion of the search 23 March 1994	Examiner Krametz, E
CATEGORY OF CITED DOCUMENTS X : particularly relevant if taken alone Y : particularly relevant if combined with another document of the same category A : technological background O : non-written disclosure P : intermediate document T : theory or principle underlying the invention E : earlier patent document, but published on, or after the filing date D : document cited in the application L : document cited for other reasons & : member of the same patent family, corresponding document			

(11)特許出願公開番号

(43)公開日 平成6年(1994)8月12日

A 7055-2.J

審査請求 有 請求項の数10 O L (全 11 頁)

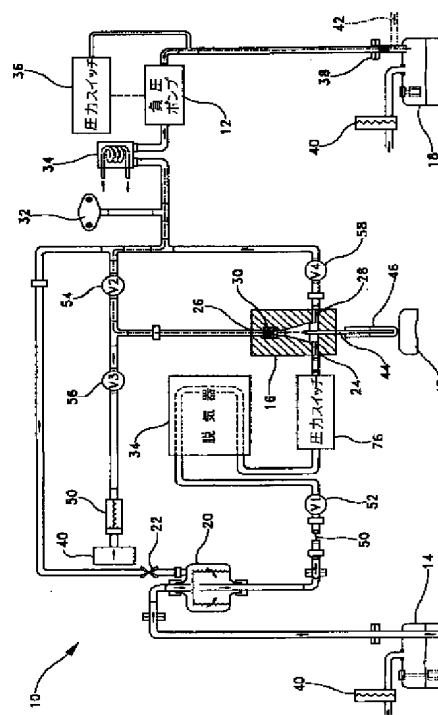
[最終頁に続く](#)

(54)【発明の名称】 負圧フルイディックスを備えたフローサイトメータの制御装置及び制御方法

(57) 【要約】

【目的】 負圧フルイディックスを備えたフローサイトメータの制御装置の提供。

【構成】 制御装置 10 は、フローセル組立体 16 を介して供給リザーバ 14 からシース流体を抜き取り且つフローセルからの廃棄物を廃棄物リザーバ 18 へと排出する負圧ポンプ 12 を含む。供給リザーバ 14 からフローセル 16 へとつながっているコンジットを介して負圧が生じ、細胞懸濁液がサンプル容器 46 からフローセル 16 内へと吸引される。フローセル組立体 16 の始動、停止、逆流洗い流し及び排出は、フローセルの入口通路及び出口通路と流体連通している 4 つの電気ソレノイド弁 V1 ～ V4 の動作、逆流洗い流しポンプの動作及び管持ち上げ装置 48 の動作をプログラムすることによって制御される。フローセル組立体 16 に供給されるシース流体に溶けている空気を除去して、フローセル組立体 16 の検知領域内に空気が入り且つ気泡が形成されるのが防止される。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 容器から分析領域を介して抜き取られる細胞サンプルの供給を制御するためのフローサイトメータ制御装置であって、前記細胞サンプル容器と連通して細胞サンプル分析を行うためのフローセルと、

前記フローセルに接続されて、前記フローセル内へのシース流体の入口流通路を提供する取り込み通路と、前記フローセルに接続されて、前記フローセルからの前記シース流体の第1の出口流通路を提供する第1の出口通路と、

前記第1及び第2の出口通路に対して負圧流通状態とされて、前記フローセルを介して前記シース流体を吸い込むモータを備えた負圧ポンプと、

前記取り込み通路に接続され、前記細胞サンプル容器の近くに圧力低下を生じさせて、細胞サンプルが前記細胞サンプル容器から前記フローセル内へと吸引されるようにする流れ制限手段と、からなる制御装置。

【請求項2】 請求項1に記載の制御装置であって、前記取り込み通路に接続され、前記フローセル内への前記シース流体の流れを制御するための第1の弁と、

前記第1の出口通路に接続され、前記フローセルからの前記シース流体の流れを制御する第2の弁と、

前記第1及び第2の弁に接続され、前記第1及び第2の弁の作動をプログラム制御によって制御するための処理手段と、を更に含み、

前記第2の弁が作動せしめられることによって、前記第1の弁が作動する前の所定の時間に亘って前記フローセルの前記分析領域内に負圧が生じ、それによって、所定の高い流速で前記フローセルを介して細胞サンプルが吸い込まれて、前記分析領域内へのサンプルの流れが上昇せしめられる、制御装置。

【請求項3】 請求項2に記載の制御装置であって、前記第1の出口通路と外気とに接続され、前記管持ち上げ装置が下降されつつあるときに、大気圧への流通路を提供して、前記フローセル内に生じた負圧を実質的に排除し、それによって、サンプルが存在しない前記フローセル内に空気が吸い込まれるのを防止する第3の弁と、前記第1の出口通路に接続されて、前記シース流体の負圧レベルを検知するためのセンサと、

前記負圧ポンプモータに接続されて、前記負圧ポンプモータへの電力の供給を調整するための駆動手段と、

前記センサと前記駆動手段とに接続されて、前記負圧レベルに基づいて前記駆動手段の動作を制御するための制御手段と、を含み、

前記負圧ポンプモータへの電力の供給が前記負圧レベルに基づいて調整されて、前記負圧レベルが所定の一定の値に調節されるようになされた、制御装置。

【請求項4】 請求項2に記載の制御装置であって、前記第1、第2、第3及び第4の弁が、ソレノイドによ

て駆動される、制御装置。

【請求項5】 請求項1に記載の制御装置であって、前記取り込み通路に接続されて、前記シース流体内に溶解した気体を取り除くための脱気器であって、酸素及び窒素が通過可能な材料によって作られて、前記負圧レベルにさらされたときに、これらの気体をその壁を介して拡散させるようになされ、前記装置の負圧にさらされる容器内に収容されていて、前記負圧レベルの負圧脈動を減衰させるように作用する脱気器を更に含む、制御装置。

【請求項6】 請求項1に記載の制御装置であって、前記フローセルに接続されて、前記フローセル内への流通路を提供するためのサンプル取り込み管と、前記取り込み管から所定の距離のところに移動自在に位置決めされて、前記細胞サンプル取り込み管を前記細胞サンプル容器内に配置し、下降速度が前記処理手段によって制御される、管持ち上げ装置を更に含み、

それによって、前記サンプル取り込み管内の外部残留物が前記細胞サンプル容器内に排出されて試験サイクル間における細胞サンプルのキャリーオーバーを減少させるようになされた、制御装置。

【請求項7】 請求項1に記載の制御装置であって、前記第1の取り込み通路に接続された供給リザーバと、前記第1及び第2の出口通路に接続された廃棄物リザーバと、

前記取り込み通路と流体連通している圧力ポンプと、前記取り込み通路に接続されて、前記フローセル内への前記シース流体の流れを制御するための第1の弁と、前記取り込み通路と流体連通していて、前記フローセル内への及び前記フローセルからの前記シース流体の流れを制御するための第2の弁と、を更に含み、

前記第1の弁と第2の弁とが同時に作動することによって、前記圧力ポンプが残留細胞サンプル及び汚染物質を前記フローセルから洗い流し、前記第1の弁及び第2の弁が、前記処理手段に接続されてプログラム制御によって作動せしめられる、制御装置。

【請求項8】 負圧ポンプによって駆動されるシース流体装置に接続された取り込み通路及び出口通路を備えた細胞分析のためのフローセルを有するサイトメータ装置を制御する方法であって、

(A) 前記フローセル内へ細胞サンプルを吸引することと、

(B) 前記細胞分析のためのフローセル中をシース流体が通過するようにさせること、とからなる方法。

【請求項9】 請求項8に記載の制御方法であって、

(C) 前記フローセルを逆流によって洗い流して、細胞サンプルと汚染物質のキャリーオーバーを最少にすること、を更に含む方法。

【請求項10】 請求項9に記載の制御方法であって、前記工程(A)が、前記取り込み通路に接続された第1

の弁と、前記第1の出口通路に接続された第2の弁とを設け、前記第1の弁を作動させて前記フローセル内に負圧を生じさせ、前記細胞サンプルを所定の流速で前記分析領域を通して吸引する前の所定時間に亘って前記第2の弁を作動させることによって行われ、前記工程(B)が、前記第1の弁を作動させて前記シース流体を前記分析流域内に流すことによって行われ、前記工程(C)が、前記第1及び第2の弁並びに前記逆流ポンプをほぼ同時に作動せしめて、前記シース流体を前記フローセル中を流し、それによって、フローセルから細胞サンプル及び汚染物質を洗い流すことによって行われる、方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、移動流体の流れすなわちシース液内に混ざっている細胞その他の粒子を測定し及び／又は選別するフローサイトメトリ方法を制御する装置に関する。より特定すると、本発明は、負圧ポンプによって駆動されるフローサイトメータ制御装置であって、フローセルの入口及び出口コンジットに接続された4つのソレノイド駆動弁の動作及び電気制御による細胞サンプル管の持ち上げ装置の動作並びにサンプル導入コンジットを逆流によって洗い流す圧力ポンプの動作を制御するようになされたフローサイトメータ制御装置に関する。流れを制限する制限器が、供給リザーバとフローセルとの間のシース液内に圧力の低下を生じさせ、開放されたキューベット又は管からフローセル内へと及びフローセルを通して細胞サンプルを吸引する負圧を形成する。

【0002】

【従来の技術】フローサイトメータすなわち移動流体の流れの中の細胞の測定は、研究室で使用される有益な分析方法である。細胞や粒子のような対象物を選別するための一般的なフローサイトメトリ装置は、基本的には、細胞サンプルがオリフィスから導入され、次いで集束せしめられるシース液を形成する流体の流れによって構成される。対象物は、オリフィスを通過する際に、その特性が装置の分析又は計数能力に基づいて決定される。通常、この装置は、高速で選別又は計数でき、大きさ、細胞質の造粒及び抗原の表示のような種々の化学的及び物理的特性に基づいて何万個もの対象物を収集することができる。従って、分析するために対象物を選別するフローサイトメトリに強い興味もたれてきた。

【0003】流体力学的に集束された流体装置を利用した市販のフローサイトメータの一つとして、カリフォルニア州サナゼイにあるベクトン・ディッキンソン・イムノサイトメトリ・システムによって市販されているFACSscan(登録商標)装置が知られている。FACSscan装置は、蛍光と光分散特性とに基づいて細胞を迅速に分析する。懸濁液内の細胞を、集束された流体流の

中心に導入し、高出力レーザからの集光された光の中を一度に1つずつ通過させることによって分析が行われる。細胞は、各々、光散乱信号と、照射されたときに射出する蛍光の強度と色とによって個々に特徴付けられる。この装置は、ノースに付与された1989年7月4日発行の米国特許第4,844,610号、同じく1991年7月9日付のノースへの米国特許第5,030,022号及び1991年8月20日付のノースに付与された米国特許第5,040,890号に記載されている。

【0004】典型的には、フローサイトメータ装置は、圧力ポンプによって圧力駆動される流体装置として供給されてきた。しかしながら、圧力駆動装置は、この装置の漏洩によってシース流体が噴射し、オペレータを生物有害物質にさらし且つ装置の光学的構成要素及び電子構成要素に損傷を起こす。圧力駆動サイトメトリ装置を制御するのに必要とされる調整弁は、血液細胞によって詰まり、弁を動かなくするか、さもなければ誤動作させる傾向がある。更に、圧力駆動フルイディックス装置の設計は、負圧駆動フルイディックス装置の設計よりも複雑である。なぜならば、圧力駆動装置は、供給リザーバのための加圧接続部の使用を必要とし且つ装置の高圧レベルに耐えるために装置に必要な他の構成を必要とするからである。圧力駆動装置はまた、フローセル組立体と気密に係合するためのサンプル容器をも必要とする。サンプル容器を取り外すと、有害なエアゾルを生じ且つ生物有害液体が逆流して滴る。

【0005】従って、負圧駆動フローサイトメトリ装置は、圧力駆動装置に対して多くの利点を提供する。供給リザーバの設計は、加圧接続部の使用を必要とせず極めて簡素化されており、持ち上げられた供給容器からの重力による排出によって再充填することができる。更に、細胞サンプルをシース流体流内に導入するために使用される細胞サンプル取り出し管からの逆流によって、オペレータが生物有害物質にさらされることがない。細胞サンプル容器は、装置液体を収容するために加圧されるか又は装置と気密に係合する必要がなく、それによって、細胞サンプル容器の大きさ及び形状の設計に新しい自由度が許容される。このような設計における自由度は、自動管持ち上げ装置のような補助装置の設計を容易にし、細胞サンプルの表示を改良する。その他の実現された利点は、管持ち上げ装置の下降時間を引き伸ばしてサンプル取り出し管からの残留流体を細胞サンプル容器内へ排出することができ、これによって、引き続いて行われる試験過程の試験結果を狂わせる細胞サンプルのキャリーオーバー(持ち越し)を最少にすることができることである。最後に、負圧駆動フルイディックスを使用することによって、ポンプが必要に応じて利用され、装置が所定の負圧又は圧力レベルに達するとスイッチが切れるように装置を設計することができ、これによって、ポンプの

作動寿命を延ばすことができる。

【0006】負圧駆動フローサイトメータの開発の際に発生する主な問題点は、装置の圧力レベルが大気圧よりも低いレベルまで低下すると、シース流体内に気泡が発生することである。大気圧でシース流体に溶けている空気は、シース流体が負圧にさらされると溶液から出てくる。この気泡は、フローセルの分析領域内のようなわずらわしい領域に滞留する。この気泡によって、細胞が、フローセルの光照射領域又は分析領域の適正な軌道からそらされる。本発明は、フローセルの取り出し通路に接続されてシース流体内に溶けている空気の大部分を取り出す脱気器を使用することによって、この問題を解決している。

【0007】負圧駆動フローサイトメータの開発の際に生じる別の問題点は、試験サイクルの終了時にフローセル内に残っている残留負圧によって空気がフローセル内に引き込まれることである。従って、フローセル内に生じた負圧を除去して、空気がフローセル内に引き込まれるのを防止する手段が必要である。この問題は、フローセルの出口通路に接続されて管持ち上げ装置が下降しているときにフローセルを大気圧に通気して空気がフローセル内に引き込まれないようにする弁を設けることによって解決される。弁の作動と管持ち上げ装置の下降速度とをコンピュータ制御することにより、これらの部材のタイミングを同期させるようにプログラムによって制御することができる。取り出し管が分析領域から取り外される前に、フローセルを十分に通気するのに十分な遅さの管持ち上げ装置の下降速度は、プログラム制御によって行われる。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明は、負圧フルイディックスを備えたフローサイトメータ方法の制御のための装置構造及び制御方法を提供することを目的とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明は、圧力駆動フルイディックスを使用し且つシース流体とサンプルとの流れを調整する弁を使用し、典型的には手動サンプル表示を備えた現在するサイトメータより優れた多くの利点を提供する。

【0010】従って、本発明の1つの観点に従って、フローサイトメータ制御装置が開示されており、この装置は、取り出し通路と出口通路とを備えたフローセルと、フローセルを通るシース流体を抜き取るための負圧ポンプと、入口通路に接続され且つ細胞サンプルの容器の近くに圧力低下を生じさせて細胞サンプルを容器からフローセル内へと吸引する流れ制限部材とを含む。

【0011】本発明の別の観点に従って、取り込み通路に接続された第1の弁V1と、出口通路に接続された第2の弁V2とを含むフローサイトメータ制御装置が記載

されており、この装置においては、シース流体の流れが始まる前に装置全体が負圧にされて、弁V1が開く前の所定の時間T₁だけ弁V2が開くことによって、短時間に細胞サンプルがフローセルを介して吸引され、それによって、フローセルのオリフィス又は細胞分析部分を通る細胞サンプルの濃度を通常のサンプル流の速度へとより速く持ち上げるようになされている。

【0012】本発明の更に別の観点に従って、フローセルの出口に接続されてシース流体の圧力又は負圧レベルを検知する負圧センサと、負圧ポンプモータに供給される電力を調節するためのドライバとを含む、制御装置が開示されている。負圧センサとモータドライバとに接続されたソリッドステート回路が、フローセルの出口において装置の負圧レベルに基づいてモータドライバの作動を制御するために設けられている。負圧ポンプモータに供給される電力は、負圧レベルを所定の一定値に合わせるように調節される。

【0013】本発明の別の観点に従って、負圧によって駆動される装置のための制御装置が開示されており、この装置は、負圧駆動装置のより低い圧力レベルによって流し込まれるシース流体内に溶けた気体を除去するための脱気器を含む。

【0014】本発明の別の観点に従って、処理装置によって制御された自動管持ち上げ装置が開示されており、この装置は、サンプル取り出し管の外部残留物を細胞サンプル容器内へ抜き取って、試験サイクル間のキャリーオーバーを減少させることができる。

【0015】本発明の別の観点に従って、管持ち上げ装置が下降したときに、フローセルを大気圧に通気させて、フローセル内に生じた負圧を大気圧と等しくして空気がサンプル注入管からフローセル内に抜き取られるのを防止するための第3の弁V3を含む制御装置が開示されている。

【0016】本発明の更に別の観点に従って、フローサイトメータ装置を制御する方法が開示されており、この方法は、シース流装置に接続され且つ負圧ポンプによって駆動されるフローセルを準備することと、フローセルを通る細胞サンプルの流れの速度を持ち上げるために、所定時間T₁に亘って細胞サンプルをフローセル内へ吸引することと、次いで、細胞分析のためにシース流体をフローセル内を循環させることとからなる。試験結果を狂わせる残留細胞サンプルや汚染物のキャリーオーバーを最少にするために、フローセルを逆方向に洗い流す付加的な段階も含まれる。管持ち上げ装置の下降速度の制御装置がオペレータが便利のように設けられて、オペレータが装置を理想的な形に制御できる能力を高めることができる。

【0017】

【実施例】添付された種々の図において、同一の構成部材に対して同一の番号が使用されている。図1には、本

発明のフローサイトメータ制御装置のフルイディックスが符号10によって示されている。装置の圧力すなわち負圧は負圧ポンプ12によってもたらされる。負圧ポンプ12は、細胞サンプルが導入され且つ細胞分析が行われるフローセル組立体16を介して供給リザーバ14からシース流体を抜き取る。廃水廃棄物は、廃棄物リザーバ18内へ排出される。供給リザーバ14からのシース流体は、0.45ミクロンの食塩水フィルタ20を通して抜き取ることによって、フローセル組立体16に導入される前に浄化される。食塩水フィルタ20の出口通路に設けられた手動による配管ピンチ弁22は、食塩水フィルタ20内に捕獲された空気を抜き取るために開放される。KNFニューバーガー (Neuberger) ポンプ・NF30KVDCモデルが、負圧ポンプ12として使用するために選択される。なぜならば、このポンプは、自己注入型であり且つ脱気器34を駆動する圧力ポンプ76として使用することができて、本発明を製造するのに在庫する必要がある構成部品を最少にすることができるからである。

【0018】フローセル組立体16は、取り込み通路24と、第1及び第2の出口通路26及び28を含む。フローセル組立体16内において、シース流体は、細胞分析領域30を通して集束される。対象物すなわち通常は何万もの血液細胞を含む試験サンプルが、大きさ、細胞質の造粒及び特定の抗原の存在に基づいて、高速で細胞を計数し且つ選別することによって分析される。

【0019】フローサイトメータ制御装置10の負圧レベルは、フローセル組立体16の第1及び第2の出口通路26及び28に接続されている負圧センサ32によって検知された装置の負圧レベルに基づいて負圧ポンプ12のモータに供給される電力を調整することによって、一定値に調節される。負圧レベルの脈動は脈動減衰器34によって減衰せしめられ、脈動減衰器34は、入口逆止弁及び出口逆止弁を備えたピストンタイプであるのが好ましい負圧ポンプのストローク容積よりもはるかに大きい(10~1000倍)内部容積を備えた容器とすることができる。常閉負圧ポンプ排出圧力スイッチ36すなわち例えばエア・ロジック・スイッチ・モデルF4100-100-50Wが、負圧ポンプ12のモータに直列に接続されて、負圧ポンプ12の漏洩又は損傷を引き起こす過度のポンプ排出圧力を防止する。圧力スイッチ36は、廃棄物リザーバ18が取り外されると負圧ポンプ12を閉止する。急速遮断装置38は、廃棄物リザーバ18が取り外されるとフローサイトメータ制御装置10を密閉する。通気フィルタ40、例えば0.2ミクロンのテフロンフィルタが、供給リザーバ14及び廃棄物リザーバ18に設けられて、リザーバ14及び18が装置の外部で操作されるときにエアゾルを収容し且つ流体の漏れを防止する。遠隔排出接続部42を廃棄物リザーバ18の代わりに設けて、オペレータが有害廃液コン

テナを操作する必要をなくすることもできる。

【0020】負圧ポンプによって駆動されるフローサイトメータ装置を設けることにより、シース流体供給リザーバ14が加圧されず、それによって、確実な装置圧力を提供する必要がある加圧接続部又はその他の構造を備えない簡素で低廉な設計が可能となるという利点がある。供給リザーバ14はまた、特別な供給容器からの重力による排水によって再充填することもでき、廃棄シース流体は、装置の動作に影響を与えることなく、離隔して配置された廃棄場所に排出してもよい。離隔排出構造によって、オペレータを生物有害物質にさらすかもしれない廃棄物リザーバ18をオペレータが空にする動作の必要性を無くすることができる。更に、装置の漏洩によってシース流体が噴出して試験装置の光学要素、電子要素又はその他の構成要素に損傷を与えることがない。

【0021】細胞は、サンプル取り出し管44によってフローセル組立体16内へ抜き取られる。細胞サンプル容器46は、管持ち上げ装置48上に配置されており、管持ち上げ装置48は、サンプル取り出し管44が細胞サンプル容器46内に入れられているサンプル内に浸漬されるまでフローセル組立体16の方向へ持ち上げられる。内径が小さい一定の長さのコンジットか又はニードル弁を含む流れ制限器50は、フローセル組立体16につながっているコンジット内の圧力低下をもたらし、それによって、フローセル組立体16の近くに負圧を生じさせ、サンプルを、適当な速度で、通常は試験管又はキューベットからなる細胞サンプル容器46からフローセル組立体16へと抜き取る。負圧駆動フルイディックスを使用することによって、シース流体がサンプル取り出し管44からしたり落ちる(これは生物有害状態を生じることが避けられるという利点がある。従って、試験過程後のサンプル取り出し管44からの液滴を収容する補助的な器具が不要である。更に、細胞サンプル容器は、加圧する必要がなく、また、フローセル組立体16に密封係合する必要もなく、その結果、細胞サンプル容器46の大きさ及び形状についての設計の自由度及び細胞サンプル表示のための手段の設計における自由度が許容される。

【0022】脱気器34は細長い壁のシリコンラバーの管である。シース流体はこの管の内側を流れ、一方、この管の外側は、装置全体の負圧レベルにさらされる。シリコンラバーは、酸素と窒素が主成分の空気を通過させるので、これらの気体がシリコンラバー管を通して拡散し、装置の負圧によって抜き取られる。脱気器34を構成するためには、長いシリコンラバー管が4オンスのプラスチック容器の内側に螺旋状に巻装される。装置の負圧がこの容器の内側に向けられ、この容器はまた、脈動減衰器34としての役目も果たす。この管は、内径0.33センチ(0.132インチ)、外径0.46センチ

(0.183インチ)、長さ127センチ(50インチ)の医療用のダウコーニング社製の管である。大気圧の0.3倍の装置負圧で試験した場合、この管は、シース流体を脱気するのに必要とされる容量の2倍の容量を有し、その結果、フローセルの入口領域に気泡が形成されない。

【0023】管持ち上げ装置48は、細胞サンプル容器46がオペレータによって便宜に装着又は取り外しできる底部位置から、約12.7センチ(5インチ)だけ上方の上方位置まで、移動する直線運動装置である。上方位置では、管持ち上げ装置48はサンプル取り出し管44に細胞サンプル容器46を提供し、細胞サンプルが、サンプル取り出し管44を介して細胞サンプル容器46からフローセル組立体16内へ抜き取られる。管持ち上げ装置48は、直線運動する際にロッド上を案内され、ラックとピニオンを備えた歯車列を介して直線運動を生じるように作動する小さいDCモータによって上方及び下方に駆動される。この直線運動の終端は、管持ち上げ装置48が頂部位置または底部位置まで移動したときに、管持ち上げ装置48のキャリッジ上の板状金属フラグによって光ビームが遮断されたことを検知する光学遮断装置によって検知される。これらの検知装置は、頂部位置と底部位置との両方に設けられて、管持ち上げ装置48のモータへの電力を遮断する。管持ち上げ装置48のキャリッジは、管持ち上げ装置48のモータに印加される電力がないときには、重力によって下方位置に保持される。管持ち上げ装置48のキャリッジは、保持磁石によって上方位置に保持される。

【0024】4つの常閉ソレノイド駆動弁V1～V4、52、54、56、58が各々フローセル組立体16に接続されて、流体の流れを制御する。V1は、フローセル組立体16の取り込み通路24に接続されている。V2、54は、フローセル組立体16の第1の出口通路26と負圧ポンプ12とに接続されて、フローセル組立体と廃棄物リザーバ18との間を連通させる。また、V3、56は、第1の出口通路26に接続されて大気圧に通気させている。V4、58は、フローセル組立体16の第2の出口通路28に接続されて、フローセル組立体16を通る廃棄物リザーバ18への連通路を提供している。

【0025】図2は、フローサイトメータ制御装置のためのコンピュータ制御装置を示している。コンピュータ制御装置60は、マイクロプロセッサユニット62を含み、マイクロプロセッサユニット62は、フローサイトメータ制御装置10の装置キャビネットの内側に取り付けられた単一の回路基板を含む。オペレータ操作スイッチ64～68は、各々、RUN、STOP(STANDBY)及びDRAIN試験モードを作動させる。自動制御のために、マイクロプロセッサユニット62、例えば、インテル286を使用することができる。STOP

(STANDBY)モード中には、弁V1～V4、52、54、56、58は全て閉じている。通常の試験工程モードにおいては、V1、52及びV2、54は開放していて、シース流体がフローセル組立体16の中を流れるのを許容する。シース流体は、次いで、廃液として廃棄物リザーバ18内へ排出される。弁3、56及び弁4、58は、オペレータが操作できるDRAINスイッチ68を作動させることによって開かれて、フローセル組立体16の細胞分析領域30を通り廃棄物リザーバ18につながる択一的な流通路を提供する。DRAINモードにおいては、フローセル組立体16は排出されて詰まりをきれいにされ、フローセル組立体16内に捕獲された気泡を取り除く。弁V3、56及び弁V4、58を開放させることによって、空気がフローセル内に入り、流体が弁V4、58から出ていくことができる。保護フィルタを備えた空気流制限部材50が弁V3、56と大気入口との間に設けられて、DRAINモード中における空気の流れを負圧ポンプ容量よりも小さい値に制限し、その結果、装置の負圧すなわち圧力レベルを維持することができる。

【0026】オペレータが、オペレータ操作スイッチ64～68を作動させ、RUN、STOP(STANDBY)及びDRAINモードの各々を指示することにより、マイクロプロセッサユニット62が、弁V1～V4、52～58のうちの適当な組み合わせに電力を供給し、管持ち上げ装置48を適当に位置決めし、逆流ポンプ76を作動させて所望の試験モードを付与するための制御信号を出力する。コンピュータ制御によって、弁作動タイミング、管持ち上げ装置の上昇及び下降タイミング及び逆流ポンプタイミングをコンピュータプログラム内で特定し、記憶媒体72からマイクロプロセッサユニット62内に出力する。記憶媒体72は、例えば、同じくコンピュータ制御装置60内に含まれるフロッピーディスクドライブ74内に挿入されるフロッピーディスクによって提供してもよい。ソレノイド作動弁V1～V4、52～58、管持ち上げ装置48及び逆流ポンプ76をプログラム制御することによって、設計者は、装置全体のフルディックス性能を最適にするために構成部品の作動タイミングを細かく調整することができ、それによって、細胞サンプルのキャリーオーバーを最少にし、細胞サンプルの流速の自動上昇を最適にし、装置の負圧レベル及び流体の流れを安定化することができる。

【0027】図3の3A及び3Bは、弁V1～V4、52～58、逆流すなわち逆噴射圧力ポンプ76及び管持ち上げ装置48を含む本発明のフローサイトメータ制御装置のコンピュータプログラム制御方法の各ステップを示すフローチャートである。図4は、通常の試験サイクル中のこれらの構成部品の作動状態を示すタイミングチャートである。図3の3Aに示すように、本発明の方法は、ステップ100において、細胞サンプル容器46内

10

20

30

40

50

に収容されている新しいサンプルを管持ち上げ装置48内に置き、RUNスイッチ64がオペレータによって作動されることによって開始される。ステップ102において、管持ち上げ装置上昇(TLU)ライン47に電力が供給されて、管持ち上げ装置48が59コンピュータ・チックス(computer ticks)(各コンピュータ・チックスは18秒に等しい)すなわち約3秒間上方に駆動される。これによって、管持ち上げ装置の上昇運動が完了する。管持ち上げ装置は、保持磁石によって上方位置に保持される。ステップ104において、管持ち上げ装置48が上方位置に保持されている間、弁V2, 54は、18コンピュータ・チックスすなわち1秒間作動せしめられて自動速度上昇機能が達成され、細胞サンプルが、細胞サンプル容器46から通常速度の5~7倍の速度で抜き取られ、分析領域30を通る細胞サンプルの流速を通常の試験レベルまで迅速に上昇せしめられる。ステップ106において、弁V1, 52は、126コンピュータ・チックスすなわち7秒間励起され、その間、管持ち上げ装置は上方位置に保持され且つ弁V2, 54が開放された状態に維持される。この後に、ステップ108において、特定の試験を実施するのに必要な時間だけデータ収集が開始され、一方、弁V1, 52と弁V2, 54とは励起された状態に維持され、管持ち上げ装置48は上方位置に維持される。ステップ108のデータ収集時間としては、装置のシース流体及びサンプルの流れが安定するための時間であって、例えば7秒である。

【0028】データ収集は、コンピュータ制御または図3の3Bのステップ110においてオペレータ操作停止スイッチ66をオペレータが押すことによって終了する。ステップ112において、弁V1, 52及び弁V2, 54は、各々、励起すなわち開放状態に維持され、管持ち上げ装置48は上方位置に維持され、一方、逆流ポンプ76は励起されて36コンピュータ・チックスすなわち2秒間逆流サイクルを行う。ステップ114において、2コンピュータ・チックスすなわちちょうど0.1秒間、弁V1, 52及び弁V2, 54が依然として励起または開放されている間に、管持ち上げ装置下降ライン49が励起されて管持ち上げ装置48の下降が開始される。管持ち上げ装置下降(TLD)ラインによって、管持ち上げ装置48が下方に駆動される。ステップ116において、管持ち上げ装置下降ライン49は電力が遮断され、一方、弁V1, 52及び弁V2, 54は、依然として54コンピュータ・チックスすなわち3秒間励起すなわち開放状態に維持される。管持ち上げ装置48は、管持ち上げ装置のライン48がちょうど0.1秒間励起されたステップ114において開始されたゆっくりとした下降を続ける。管持ち上げ装置48のゆっくりとした下降によって、細胞サンプル容器46が細胞サンプル取り込み管44からゆっくりと分離し、残留細胞サンプルが

細胞サンプル取り込み管44から下降しつつある細胞サンプル容器46内へと戻される。最後に、ステップ118において、弁V1, 52及び弁V2, 54は電力を遮断されすなわち閉止され、一方、弁V3, 56すなわち大気入口弁が励起すなわち開放され、管持ち上げ装置下降ライン49が54コンピュータ・チックスすなわち3秒間励起されて管持ち上げ装置48を下方に駆動する。管持ち上げ装置48は自動的に停止し、サイクルが終了すると、弁V3, 56への電力が遮断される。この一連の工程は、図4のコンピュータ制御タイミングチャートに示されている。

【0029】負圧ポンプのためのソリッドステート制御回路が図5に示されている。演算増幅器80は、脈動減衰器34の入口に接続された負圧センサ32からの入力信号を受け取る。負圧センサ32は、装置全体の負圧すなわち圧力レベルを監視する。負圧センサ32は、装置の圧力すなわち負圧レベルに応答して変位すると比例電圧を発生する圧電材料からなる膜を備えている。負圧センサ32からの出力は、12V電源78からの端子1および3において電力を供給されるホイートストン・ブリッジの形態に設計されている。ホイートストン・ブリッジは、バランス状態で端子2及び4からピックアップされ且つ100キロオームのフィードバック抵抗82を有する演算増幅器80の端子に供給される。演算増幅器82のピン1の出力は、装置の圧力すなわち負圧レベル(電力/圧力)に比例する直線的な電圧である。演算増幅器80の出力は、演算増幅器84の正の入力端子に供給される。ポテンショメータ86は、プラス12Vから0Vまでの範囲で設定でき且つ演算増幅器84の負の入力端子に供給される負圧設定レベル制御装置として作用する。演算増幅器84は、どちらの入力電圧が大きいかを判定するコンパレータとして作用する。

【0030】負圧レベルが不適当な場合には、演算増幅器84からの電流がモータ駆動装置70(Power MOSFET)を駆動し、負圧ポンプ12のモータへより多くの電流を流してより速く且つより激しく駆動し、装置の負圧レベルをポテンショメータ86によって設定されたレベルまで上昇させる。この構成によって、負圧ポンプ12のモータからの全駆動電圧(1Vの10分の2~3)を利用することができる。“全負荷”に対する“無負荷”の割合は、設定負圧の約3%以内であることがわかった。負圧レベルは、工場の大気圧より約4.5psi低い負圧に設定される。

【0031】排出圧力スイッチ36は通常閉じている。負圧ポンプ12の排出脚部は、圧力が存在しない場合には、排出圧力スイッチ36が閉じたままであり、負圧ポンプ制御回路は通常通り機能する。負圧ポンプ12の排出コンジットに高い圧力が生じると、排出圧力スイッチ36は回路を開き負圧ポンプ12から電力を遮断する。このような高圧状態は、廃棄物リザーバ18が取り外さ

れたときに生じる。この場合には、急速遮断装置38がコンジットを密閉し、その結果、装置が行き詰まり通路内に廃液を出力し始め、それによって圧力が高くなる。排出圧力スイッチ36を設けることによって、負圧ポンプ12のモータが焼き切れるのが防止され又は環境内へ廃棄食塩溶液が噴射されるのが防止される。

【0032】負圧センサ32は、モトローラの負圧センサ・MPX2051モデルによって提供することができる。モータ駆動装置70は、例えば、パワーMOSFET・モデル1RF513によって提供される。予め選択された装置の負圧レベルに基づいて負圧ポンプ12のモータへの電力の供給を調整することによる1つの利点は、“要望された”構成部品として必要とされるときにのみ負圧ポンプ12が作動するという点である。従って、負圧ポンプ12は、シース流体が流れない装置のSTANDBYモードの間中作動する必要がなく、通常の試験モード中にほんの2～3%の速度でのみ作動し、それによって、負圧ポンプの寿命を延ばすことができる。同一のモデルのポンプが、負圧ポンプ12と圧力ポンプ76との両方として使用されている。このポンプは、例えば、KNFニューバーガー(Newberger)のモデルNF30KVDCによって提供することができる。このポンプの選択は、これが自己注入型であるという点に基づく。最初に、装置に電力が供給されると、ポンプは、装置のコンジットから空気を吸い込むことができなければならない、次いで数秒後に液体を吸引して通常の負圧サイクルを形成する。この機能を達成するためには、負圧ポンプは自己注入型でなければならない。更に、ポンプが圧力ポンプ76として使用される場合には、当該ポンプは、非電力供給状態でもシース流体を流

*すことができなければならない。上記のモデルのポンプは極めて低圧力チェック弁を含み、この弁は、大きな圧力低下なしに液体をポンプから吸引することを可能にする。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のフローサイトメータ制御装置のフルイディックス構造を示す概略図である。

【図2】本発明のためのコンピュータ制御のブロック図である。

【図3】3A及び3Bは、弁V1～V4、逆流洗い流しポンプ及び管持ち上げ装置のコンピュータ制御方法の各ステップを示すフローチャートである。

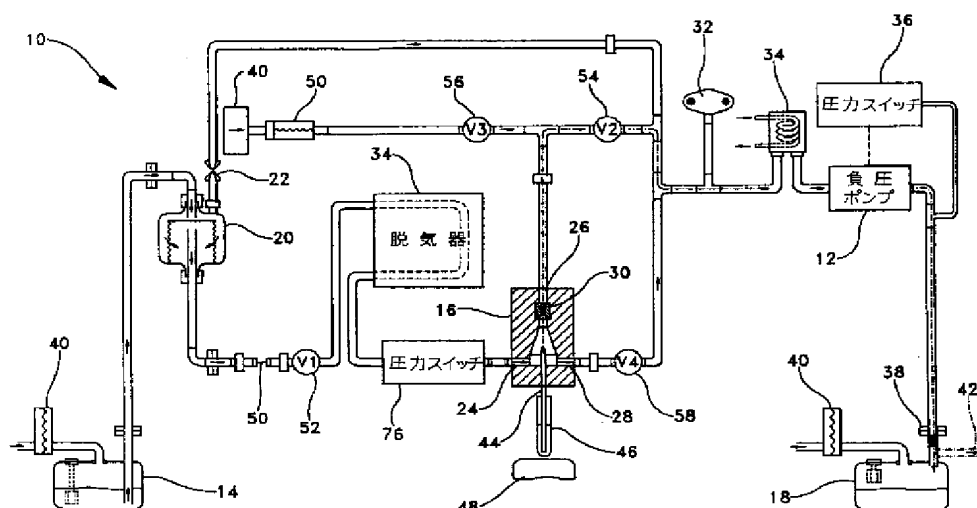
【図4】弁V1～V4の動作のタイミングチャートである。

【図5】負圧ポンプ及び排出圧力スイッチのための閉ループ制御を示す回路図である。

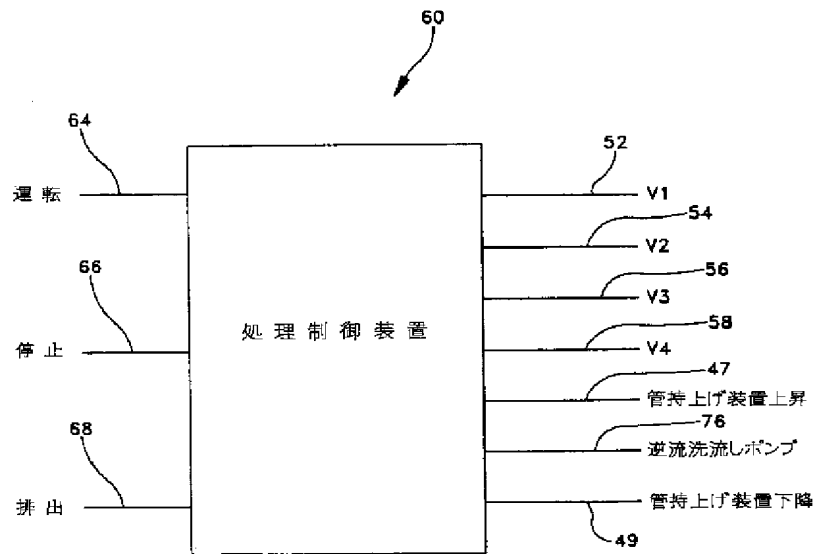
【符号の説明】

10 フローサイトメータ制御装置、12 負圧ポンプ、14 供給リザーバ、16 フローセル組立
体、18 廃棄物リザーバ、20 フィルタ、22
24 取り込み通路、26 第1出口通路、28
第2出口通路、32 負圧センサ、34 脱
気器、36 圧力スイッチ、40 通気フィルタ、
42 排出接続部、44 サンプル取り込み管、
46 細胞サンプル容器、48 管持ち上げ装置、
50 流れ制限器、52、54、56、58 弁、
60 コンピュータ制御装置、62 マイクロプロセ
ッサユニット、64、66、68 スイッチ、72
記憶媒体、74 フロッピディスクドライバ、7
6 逆流圧力ポンプ

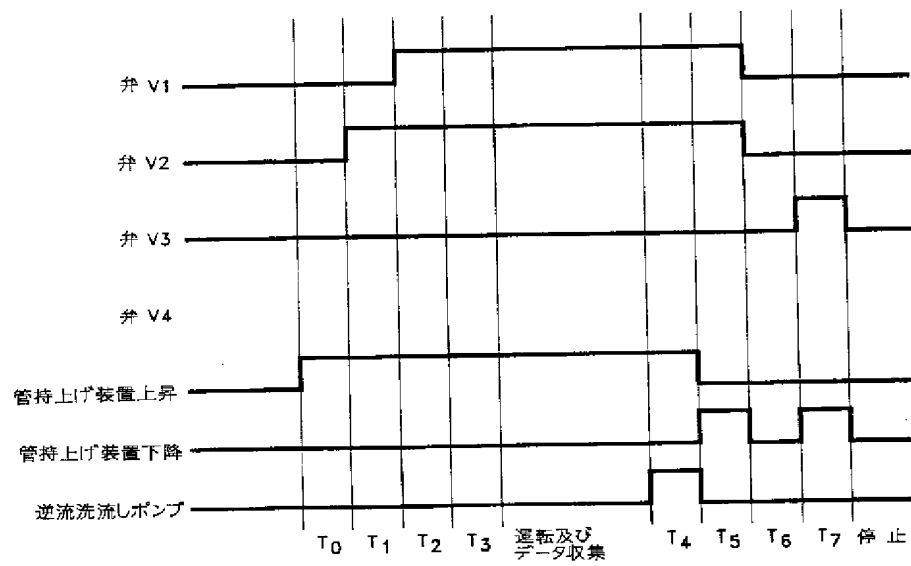
【図1】



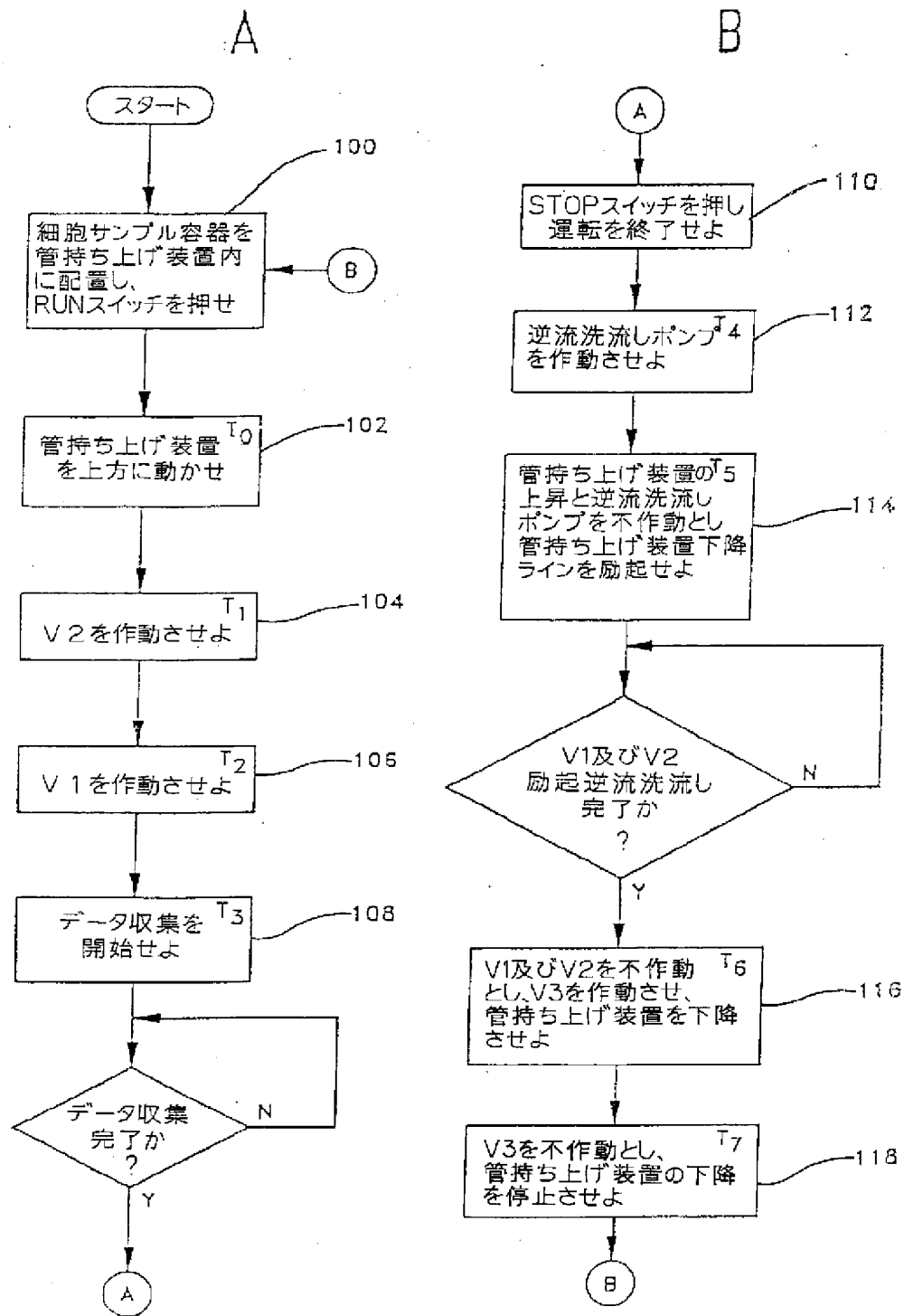
【図2】



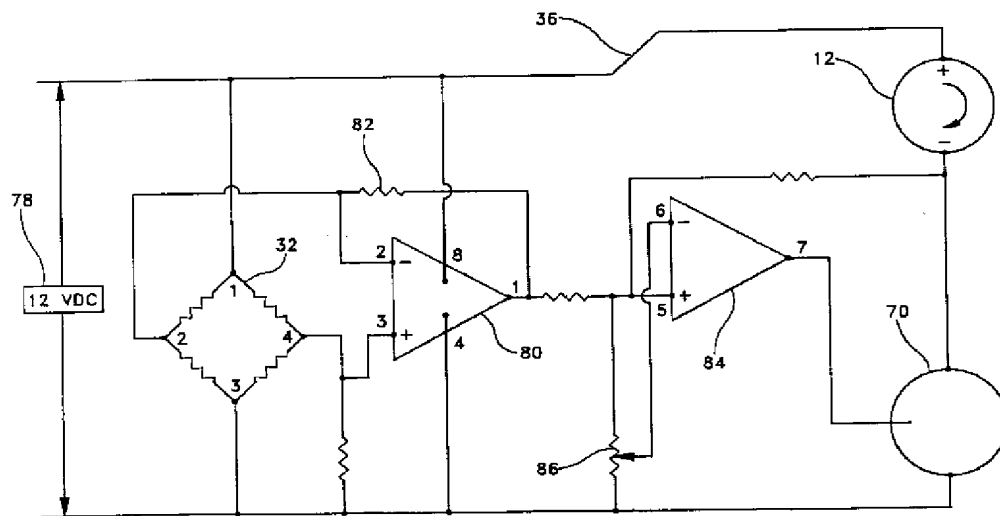
【図4】



【図3】



【図5】



フロントページの続き

(72)発明者 ケネス・ウフェンハイマー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州95030,
 ロス・ガトス, サミット・ウッズ・ドライ
 ブ 24185